

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 山下紀行

主論文 1編

Intratubular epithelial-mesenchymal transition and tubular atrophy after kidney injury in mice.

American Journal of Physiology Renal Physiology 319: F579–F591, 2020

審査結果の要旨

急性腎障害を起こすと、その後慢性腎不全に至ることを臨床でしばしば経験する。しかしながら、その病態については未解明な部分も多く、特異的な治療薬も存在しない。そのため、急性腎障害後の修復や慢性腎不全への移行メカニズムの解明は、慢性腎不全や透析の予防、ひいては医療費の削減のために非常に重要である。慢性腎不全の腎組織では基底膜の肥厚を伴う尿細管萎縮を認めるが、これは腎障害の結果であるのみならず、周囲毛細血管からの酸素供給が落ち、尿細管は一層低酸素状態へと陥るため、さらなる腎障害進展を助長する。急性腎障害後の修復過程では障害・脱落した尿細管上皮細胞の排除と、周辺細胞の遊走・増殖による修復が見られ、これらは直接的に基底膜への力学的な影響を及ぼすと考えられる。今回、急性腎障害後慢性腎不全時における尿細管萎縮の進展メカニズムについて、障害尿細管上皮、特に尿細管内での上皮-間葉転換 (Epithelial Mesenchymal Transition: EMT) が尿細管基底膜に及ぼす直接的な影響を検討した。In vitro で尿細管萎縮を再現するために、尿細管基底膜を模した薄い浮遊 collagen gel 上で尿細管上皮細胞 (NRK-52E) を培養した。細胞増殖に伴い、萎縮尿細管基底膜のように gel は収縮・肥厚し、TGF β の添加により EMT を誘導すると、gel 収縮が高度に促進された。免疫染色では、TGF β の添加により細胞接着斑に存在するメカノセンサーである Focal adhesion kinase (FAK) のリン酸化とアクチン線維の形成が増強した。FAK 阻害薬の添加や siRNA による FAK 遺伝子の knock down を行うことにより、gel の収縮およびアクチン線維の形成は抑制された。次に In vivo での評価を行った。Tamoxifen 誘導性近位尿細管特異的 Cre 発現遺伝子 (SLC34a1Cre) と tdTomato Reporter 遺伝子発現マウスに、少量の Tamoxifen を投与して単一近位尿細管上皮細胞を赤色に標識し、その後 35 分もしくは 26 分の虚血再還流障害 (IRI) を惹起した。IRI28 日後の慢性期において、高度の障害腎 (IRI 35 分) で、活発な増殖後変化を反映した多細胞クローンが存在する尿細管は萎縮していた。一方で、軽度の障害腎 (IRI 26 分) では、多細胞クローンが存在する尿細管でも萎縮は認めなかった。IRI35 分では TGF β の発現亢進、尿細管上皮で FAK のリン酸化と Vimentin の発現を認め、管腔内での尿細管上皮細胞の EMT および細胞張力の亢進が示唆された。最後に、35 分の IRI 後に FAK 阻害薬を連日投与したところ、著明な腎障害の軽減効果を認め、多細胞クローンが存在する尿細管においても萎縮は回避された。高度の腎障害時には、尿細管上皮細胞の活発な増殖や、TGF β シグナルの亢進に伴う EMT を認め、傷害尿細管上皮細胞自身が直接的に管腔を求心性に収縮させる張力を発生させ、尿細管萎縮を加速させる可能性が示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、一般的に腎障害後の尿細管上皮の細胞増殖は再生・修復に寄与するものと考えられているが、EMT を伴う活発な細胞増殖はむしろ尿細管萎縮を加速させ、線維化につながる可能性もあることを示すことができた点で、医学上価値のある研究と認める。

令和 2 年 10 月 15 日

審査委員 教授 田中秀央 ㊞

審査委員 教授 浮村理 ㊞

審査委員 教授 佐和貞治 ㊞